

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(54) TRICYCLO COMPOUND AND ITS PRODUCTION

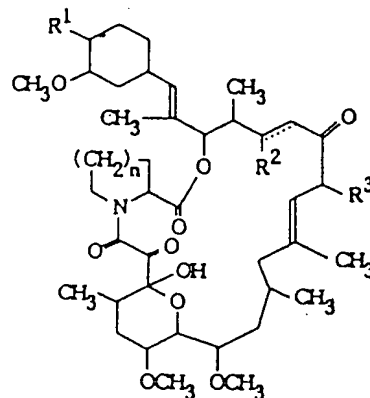
(11) 3-72484 (A) (43) 27.3.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 65-204519 (22) 31.7.1991
 (71) FUJISAWA PHARMACEUT CO LTD (72) MASAKUNI OKUHARA(4)
 (51) Int. Cl.⁵. C07D498/18,A61K31/40,A61K31/435,C12N1/20,C12P17/18//C12N1/20,
 C12R1/465)(C12N1/20,C12R1/55)(C12P17/18,C12R1/55)

NEW MATERIAL: A compound expressed by the formula (R^1 is (protected) OH; R^2 is H or (protected) OH; R^3 is methyl, ethyl, propyl or allyl; (n) is 1 or 2; the symbol of solid line and dotted line indicates single or double bond).

EXAMPLE: 17-Allyl-1,14-dihydroxy-12-[2-(4-hydroxy-3-methoxycyclohexyl)-1-methylvinyl]-23,25-dimethoxy-13,19,21,27-tetramethyl-11,28-dioxo-4-azatricyclo[23.3.1.0^{4,9}]octacos-18-ene-2,3,10,16-tetraone.

USE: An immunosuppressive and antimicrobial agent.

PREPARATION: A strain, such as *Streptomyces tsukubaensis* No.9993 (FERM P-7886), belonging to the genus *Streptomyces* and capable of producing a substance FR-900506 is cultured in a culture medium.

**(54) STAUROSPOURINE DERIVATIVE**

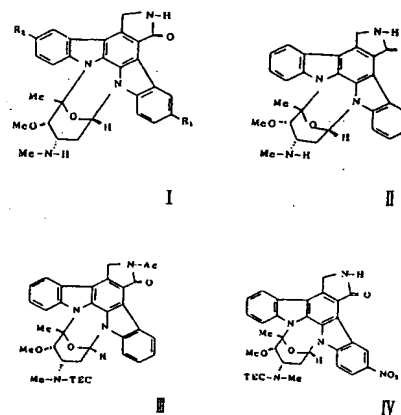
(11) 3-72485 (A) (43) 27.3.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 65-130285 (22) 22.5.1990 (33) JP (31) 89p.127851 (32) 23.5.1989
 (71) ASAHI CHEM IND CO LTD(1) (72) RINTARO YAMADA(2)
 (51) Int. Cl.⁵. C07D498/22//A61K31/55

NEW MATERIAL: A compound expressed by formula I (R_1 and R_2 are H, amino, OH or hydroxymethyl, provided that both R_1 and R_2 are not H).

EXAMPLE: 3-Aminostaurosporine.

USE: A blood platelet agglutination inhibitor.

PREPARATION: The methylamino group at the 4'-N-position of a staurosporine expressed by formula II is protected to provide 4'-N-(β,β,β -trichloroethoxycarbonyl)staurosporine, which is then reacted with acetic anhydride to afford an acetyl derivative expressed by formula III (TEC is β,β,β -trichloroethoxycarbonyl). The resultant derivative is subsequently reacted with nitronium trifluorosulfonate to provide a mononitro derivative, which is then deacetylated to afford a compound expressed by formula IV. The obtained compound expressed by formula IV is subsequently reacted with zinc dust and dilute hydrochloric acid to provide the compound expressed by formula I (group R_1 is amino group and group R_2 is H).

**(54) NOVEL ORGANOSILICON COMPOUND**

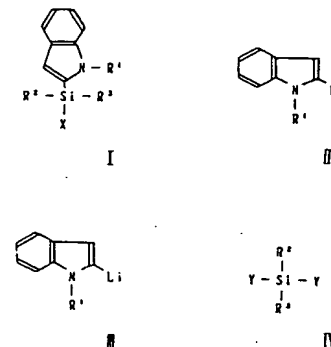
(11) 3-72486 (A) (43) 27.3.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 64-207684 (22) 9.8.1989
 (71) MITSUI PETROCHEM IND LTD (72) KEIICHI YOKOYAMA
 (51) Int. Cl.⁵. C07F7/10,C07F7/12

NEW MATERIAL: A compound of formula I (R^1 - R^3 are each alkyl, aryl or aralkyl; X is halogen or OH).

EXAMPLE: Chlorodiphenyl[2-(1-methylindolyl)]silane.

USE: A raw material for the production of silicon thin films by vapor phase polymerization, a silylating agent for hydroxyl group, a surface-treating agent.

PREPARATION: An alkylolithium (pref. n-butyllithium, t-butyllithium) is reacted with an N-substituted indole of formula II in an inert atmosphere to form a lithium-modified N-substituted indole compound of formula III. Thence, an equimolar amount of a dihalosilane of formula IV (Y is halogen) (pref. dichlorosilane) is reacted with the above compound.



⑩ 日本国特許庁(JP) ⑪ 特許出願公開
⑫ 公開特許公報(A) 平3-72485

⑬ Int. Cl.⁸
C 07 D 498/22
// A 61 K 31/55

識別記号 庁内整理番号
ACB 8615-4C
7252-4C

⑭ 公開 平成3年(1991)3月27日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全14頁)

⑮ 発明の名称 スタウロスボリンの誘導体

⑯ 特 願 平2-130285

⑰ 出 願 平2(1990)5月22日

優先権主張 ⑱ 平1(1989)5月23日 ⑲ 日本(JP) ⑳ 特願 平1-127851

㉑ 発 明 者 山 田 林 太 郎 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化成工業株式会社内
㉒ 発 明 者 佐 々 木 久 仁 恵 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化成工業株式会社内
㉓ 発 明 者 大 村 智 東京都港区白金5丁目9番1号 北里研究所(社団法人)
㉔ 出 願 人 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
㉕ 出 願 人 北里研究所(社団法人) 東京都港区白金5丁目9番1号
㉖ 代 理 人 弁理士 清 水 猛 外1名

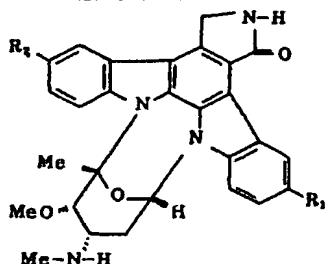
明 細 書

1 発明の名称

スタウロスボリンの誘導体

2 特許請求の範囲

一般式(Ⅰ)



(式中、R₁ および R₂ はそれぞれ水素原子、アミノ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシメチル基を表す。ただし、R₁ と R₂ は共に水素原子となることはない。)

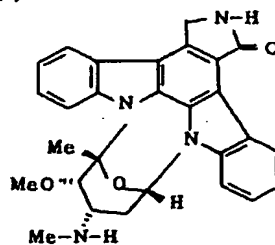
で示されるスタウロスボリン誘導体およびその酸付加塩。

3 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、血小板凝集阻害作用を有する次式

(Ⅱ)



(Ⅱ)

で示されるスタウロスボリンの誘導体に関する。

(従来の技術)

スタウロスボリンが強力な血管弛緩作用および血小板凝集阻害作用を有していることは、既に知られている(特開昭53-73501)。

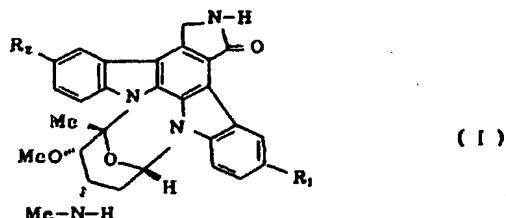
(発明が解決しようとする課題)

スタウロsporinが血小板に特異性の高いものになれば、血小板凝集阻害剤として臨床上有用である。

(課題を解決するための手段)

本発明者らは、スタウロsporin誘導体の家兎摘出血管の弛緩作用、およびヒト血小板凝集阻害作用について検索した。すなわち、強い血小板凝集阻害能を有し、血管弛緩能の弱い化合物について鋭意研究した。その結果、血小板に特異性の高い優れた作用を有するスタウロsporin誘導体の合成に成功し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、一般式(1)

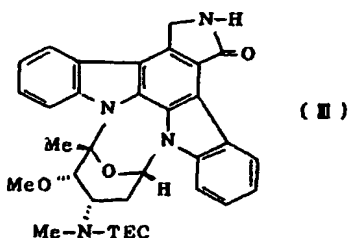


略す)が有効である。

次に示す工程1により、4'-N一位を保護した式(II)の化合物が合成される。

(工程1)

式(II)の (工程1)
化合物 (Str)



試薬として、 β, β, β -トリクロロエチルクロロホルメート(スタウロsporinに対し1.1~1.5当量)を用いることにより、式(II)で示される4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporinを得ることができる。反応はピリジン溶液中、0℃~室温の範囲内で行われ、数時間以内に完了する。

(式中、 R_1 および R_2 はそれぞれ水素原子、アミノ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシメチル基を表す。ただし、 R_1 と R_2 は共に水素原子となることはない。)

で示されるスタウロsporin誘導体およびその酸付加塩に関する。

付加する酸としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、ギ酸、酢酸、安息香酸、マレイン酸、フマル酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、シュウ酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸等がある。

一般式(1)で示される化合物およびその酸付加塩は、強力な血小板凝集阻害作用を有する。

一般式(1)で示される化合物は、スタウロsporinより数工程で製造することができる。その方法を説明する。

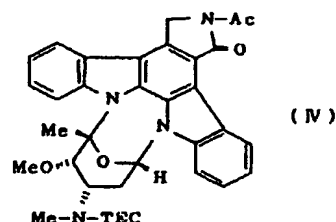
式(II)で示されるスタウロsporinの4'-N一位のメチルアミノ基は、反応活性が高いため保護する必要がある。保護基は、 β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル基(以下、TEC基と

以下の工程でも同様であるが、生成物の単離、精製は、通常用いられる方法、例えば、抽出、結晶化、クロマトグラフィー等を組み合わせて行うことが可能である。

6-位のアミド窒素原子の保護基としてアセチル基を導入した式(IV)の化合物は、次に示す工程2により合成できる。

(工程2)

式(II)の (工程2)
化合物

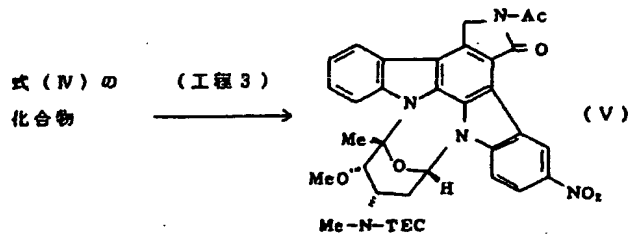


式(II)の化合物を2, 6-ルチジンに溶解し、無水酢酸を反応させて、式(IV)のアセチル体を得ることができる。無水酢酸は通常、式(II)の化合物に対し、5当量以上が適当である。反応は

120～130℃の範囲で行われ、数時間内で終了する。

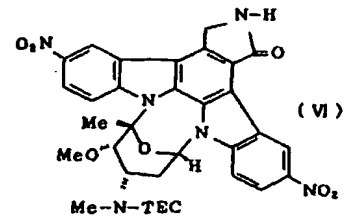
芳香環に置換基（ニトロ基）を導入した式（V）および（VI）の化合物は、次の工程3により合成できる。

（工程3）



式（II）
化合

（工程3）

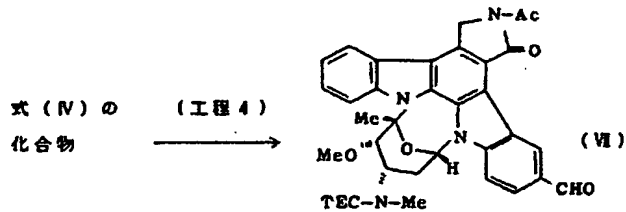


式（IV）または（II）の化合物をジクロロメタン中、ニトロニウムトリフルオロスルホネートを反応させて、それぞれ式（V）のモノニトロ体、式（VI）のジニトロ体を得ることができる。ニトロニウムトリフルオロスルホネートは式（V）の化合物の合成に関しては1.2～1.5当量、式（VI）の化合物の合成に関しては1.0～2.0当量使用するのが適当で、反応は-60～-78℃の範囲で行われ、1時間以内で終了する。

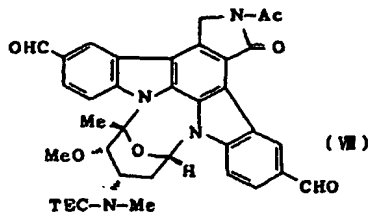
芳香環に置換基（ホルミル基）を導入した式（VII）、（VIII）の化合物は、次の工程4により合

成できる。

（工程4）



または



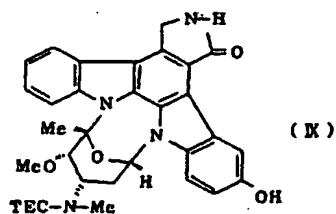
式（IV）の化合物をジクロロメタン中、四塩化チタンおよび α 、 α -ジクロロメチルメチルエーテルを反応させて、モノホルミル体（VII）およびジホルミル体（VIII）を得ることができる。モノホルミル体合成に関しては、四塩化チタンは2～15当量、また、 α 、 α -ジクロロメチルメチルエーテルは1.5～3当量使用するのが適当で、反応は0℃～室温の範囲内で行われ、6～12時間で終了する。また、ジホルミル体合成に関しては、四塩化チタンは2.0～2.5当量、また、 α 、 α -ジクロロメチルメチルエーテルは1.0～1.5当量使用するのが適当で、反応は0℃～室温の範囲内で行われ、6～12時間で終了する。

R₁が水酸基であり、かつ、R₂がそれぞれ水素および水酸基である式（IX）、（X）のスタウロスボリン誘導体の合成は、次に示す工程5により得られる。この工程5は、バイヤー・ビリガー型の転位反応、次いで脱アセチル化を行う。

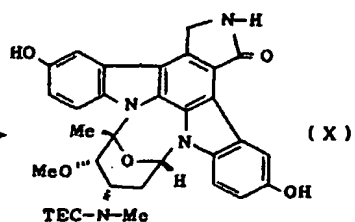
(工程5)

式(VI)の
化合物

(工程5)

式(VII)の
化合物

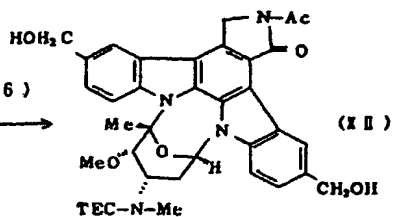
(工程5)



式(VI)あるいは(VII)の化合物をジクロロメ

式(VIII)の
化合物

(工程6)



式(VI)あるいは(VII)の化合物を不活性溶媒中、水素化ホウ素ナトリウムと反応させて、それぞれ式(XI)のモノヒドロキシメチル体、式(XII)のジヒドロキシメチル体を得ることができる。不活性溶媒としては、テトラヒドロフランまたはジオキサン等がある。水素化ホウ素ナトリウムは、反応出発物質のホルミル基に対して1.5~5当量が適当である。反応は0℃~室温の範囲内で行われ、数時間以内で終了する。

式(V)、(XI)および(XII)の化合物の脱アセチル化は、次に示す工程7で実行される。

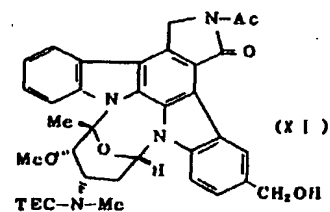
タン中、メタクロロ過安息香酸および炭酸水素カリウムと光照射下、転位反応を行い、その後、水酸化ナトリウム水溶液で処理し、脱アセチル化を行い、それぞれ式(X)のモノヒドロキシ体、式(X)のジヒドロキシ体を得ることができる。メタクロロ過安息香酸は2~6当量が適当で、反応は室温で行われ、数時間以内で終了する。

R₁がヒドロキシメチル基であり、かつ、R₂がそれぞれ水素およびヒドロキシメチル基である式(XI)、(XII)のスタウロスボリン誘導体の合成は、次の工程6により得られる。

(工程6)

式(VI)の
化合物

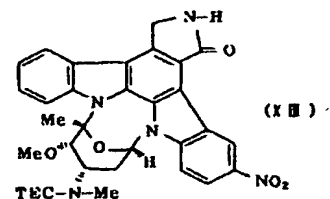
(工程6)



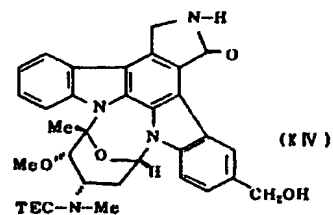
(工程7)

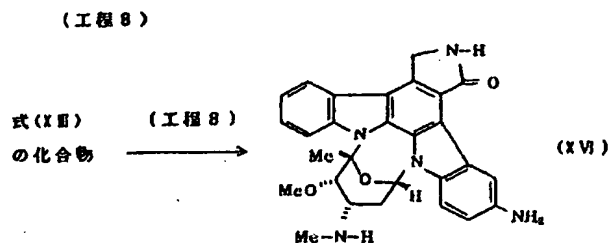
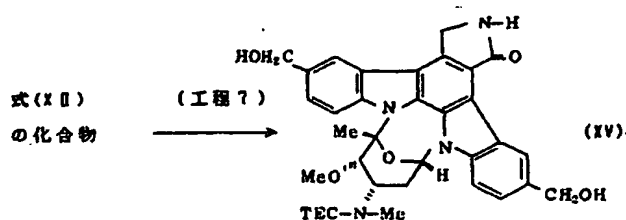
式(V)の
化合物

(工程7)

式(XI)
の化合物

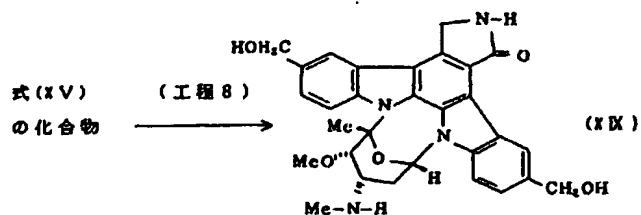
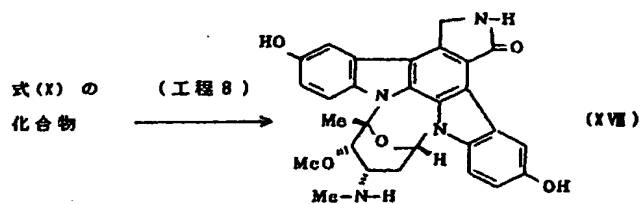
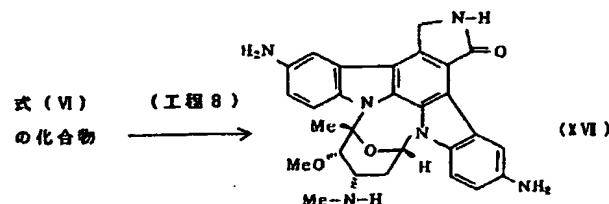
(工程7)





式(V)、(XI)または(XII)の化合物を不活性溶媒中、抱水ヒドラジンを反応させ、それぞれ(XIII)、(XIV)、(XV)の脱アセチル体を得ることができる。使用可能な不活性溶媒の例としてメチルセロソルブ、テトラヒドロフラン、ジオキサン等があり、抱水ヒドラジンは式(V)、(XI)、(XII)の化合物に対して大過剰使用される。反応は0℃～室温の範囲で行われ、数時間で終了する。

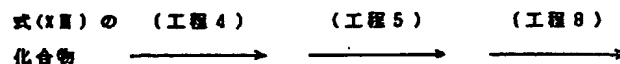
脱TECした式(XVI)、(XVII)、(XVIII)および(XIX)のスタウロスボリン誘導体の合成は、次に示す工程8により得られる。この工程8は、脱TEC化の反応を行うが、同時にニトロ基のアミノ基への変換が実行される。

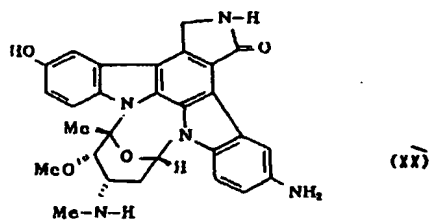


式(XIII)、(VI)、(X)、(XV)の化合物を不活性溶媒中、亜鉛粉末および希塩酸と反応させ

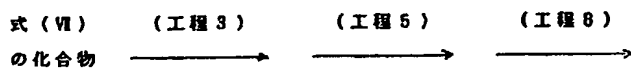
て、それぞれ式(XVI)のモノアミノ体、式(XVII)のジアミノ体、式(XVIII)のジヒドロキシ体、式(XIX)のジヒドロキシメチル体を得ることができる。また、この工程により、式(X)、(XIV)からそれぞれ相当するモノヒドロキシ体、モノヒドロキシメチル体を得ることができる。不活性溶媒の例としては、メチルセロソルブ、テトラヒドロフランまたはジオキサン等がある。反応は0℃～室温の範囲内で行われ、数時間以内で終了する。

また、3-位と9-位に異なる置換基を導入した誘導体、例えば3-アミノ-9-ヒドロキシスタウロスボリン(XI)の合成は、次のように式(XII)の化合物より、工程4、工程5および工程8を順次、実行することによって合成できる。





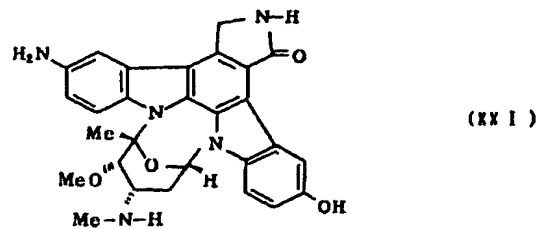
また、3-ヒドロキシ-9-アミノスタウロスポリン (XXI) の合成は、次のように式 (VI) の化合物より工程3、工程5および工程8を順次、行うことによって合成できる。



懸濁剤で処方することにより、上記症状の改善を企てることができる。

本発明に使用する前記有効成分は、かかる治療を必要とする患者に対して、患者当たり0.01~40mgの用量範囲で、一般に数回に分けて、したがって1日当たり0.1~200mgの全日用量で投与することができる。用量は症状の程度、患者の体重および当該者（医師ら）が認める他の因子によって変化させる。

錠剤、カプセル剤等に混和することができる具体的な薬剤は、次に示すものである。トラガント、アラビアゴム、コーンスターチ、またはゼラチンのような結合剤；微結晶性セルロースのような賦形剤；コーンスターチ、ゼラチン化デンプン、アルギン酸等のような膨化剤；ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤；ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤；ペパーミント、アカモ/油、またはチェリーのような香味剤を添加し、調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料に、さらに油脂のような液状担体を含有



(作用)

本発明の一般式 (I) で示されるスタウロスポリン誘導体は、血管収縮阻害作用も合わせ持つが、血小板に対してはより特異的に強い凝集阻害作用を持っている。したがって、血小板凝集が誘因の一つである血栓症、特に、悪性腫瘍、火傷、動脈硬化、脳梗塞などに伴う血流不全の改善に有効であると考えられる。

本発明の一般式 (I) で示される化合物を有効成分として含有するスタウロスポリン誘導体制剤は、経口投与として錠剤、カプセル剤のような調剤で、または非経口投与として無菌溶液剤または

させることができる。種々の他の材料は、被覆剤として、また調剤単位の物理的形態を別な方法で変化させるために存在させることができる。

注射のための無菌組成物は、注射用水のようなベヒクル中の活性物質、ゴマ油、ヤシ油、落花生油、綿実油等の天然産出植物油、またはエチルオレエート等のような合成脂肪ベヒクルを溶解あるいは懸濁させる通常の製剤実施にしたがって処方することができる。緩衝剤、防腐剤、酸化防止剤等を必要に応じて混和することもできる。

(発明の効果)

〔血小板凝集に対する作用〕

ヒト静脈より3.8%クエン酸ナトリウム1/10容を添加して採血した血液を、1000回転10分間遠心し、血小板多血漿 (PRP) を調製した。次に、血小板凝集計のキュベットに、PRP 200 μ l および被験化合物を含むリン酸緩衝液 25 μ l を加えて混和し、37℃、3分間インキュベートした後、攪拌しながら、血小板凝集惹

起物質としてコラーゲン溶液（終濃度 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）、アデノシン二リン酸（ADP）溶液（終濃度 $5 \mu\text{M}$ ）または9, 11-ジデオキシ-9 α , 11 α -メタノエボキシ-プロスタグランジンF $_{2\alpha}$ （U46619）溶液（終濃度 $0.3 \mu\text{M}$ ） $25 \mu\text{g}$ を添加し、血小板凝集に伴う透過度の変化を測定した。被験化合物の濃度を種々変えて測定を行い、本測定系で血小板凝集を50%阻害する化合物の濃度、 IC_{50} 値を求めた。結果は第1(A)表および第1(B)表に示す。

3-アミノスタウロsporinおよび3, 9-ジアミノスタウロsporinは、コラーゲン、ADP凝集において、また3, 9-ジヒドロキシスタウロsporinおよび3, 9-ジヒドロキシメチルスタウロsporinは、コラーゲン、ADPおよびU-46619いずれの凝集においても、スタウロsporinに比較して、強い血小板凝集阻害作用を示した。

〔摘出血管平滑筋に対する作用〕

家兎胸部大動脈をジャーナル・ファーマコロジカル・エクスペリメンタル・セラピー、231巻141~145頁（1984）に示すごとく摘出し、血管条片を作成した。また、実験方法も上記雑誌記載条件に準じた。

実験方法の概略を記す。血管条片標本を10mlのクレープス・ヘンゼライト液中で、等尺性懸垂させ、収縮惹起物質・KCl（終濃度60mM）、を添加し、予備収縮を行った。その後洗浄し、KClを10, 20, 30, 40, 60mMと累積添加し、収縮を惹起させ、その張力を薬物無添加コントロールとした。さらに洗浄後の血管標本に、被験化合物溶液を添加し、1時間ブレインキューベーションした。その後、KClを累積的に添加し（10~60mM）、収縮抑制反応を観察した。

40mM KClによる血管収縮を50%抑制する濃度（ ED_{50} 値）を求め、第2表に示した。

3-アミノスタウロsporin、3, 9-ジアミ

第1(A)表

化 合 物		IC_{50}
コラーゲン凝集 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$	3-アミノスタウロsporin	$0.9 \mu\text{M}$
	3,9-ジアミノスタウロsporin	$0.3 \mu\text{M}$
	スタウロsporin（公知化合物）	$8.5 \mu\text{M}$
ADP凝集 $5 \mu\text{M}$	3-アミノスタウロsporin	$0.3 \mu\text{M}$
	3,9-ジアミノスタウロsporin	$0.06 \mu\text{M}$
	スタウロsporin（公知化合物）	$6.4 \mu\text{M}$

第1(B)表

化 合 物		IC_{50}
コラーゲン凝集 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$	3,9-ジヒドロキシスタウロsporin	$1.2 \mu\text{M}$
	3,9-ジヒドロキシメチルスタウロsporin	$0.53 \mu\text{M}$
	スタウロsporin（公知化合物）	$8.4 \mu\text{M}$
ADP凝集 $5 \mu\text{M}$	3,9-ジヒドロキシスタウロsporin	$2.0 \mu\text{M}$
	3,9-ジヒドロキシメチルスタウロsporin	$1.1 \mu\text{M}$
	スタウロsporin（公知化合物）	$6.4 \mu\text{M}$
U46619凝集 $0.3 \mu\text{M}$	3,9-ジヒドロキシスタウロsporin	$1.0 \mu\text{M}$
	3,9-ジヒドロキシメチルスタウロsporin	$1.1 \mu\text{M}$
	スタウロsporin（公知化合物）	$8.2 \mu\text{M}$

ノスタウロsporin、3, 9-ジヒドロキシスタウロsporinおよび3, 9-ジヒドロキシメチルスタウロsporinは、KCl収縮において、スタウロsporinに比較して、弱い収縮阻害を示した。

第2表

化 合 物	ED_{50} 40mM-KCl
3-アミノスタウロsporin	$0.25 \mu\text{M}$
3,9-ジアミノスタウロsporin	$0.5 \mu\text{M}$
3,9-ジヒドロキシスタウロsporin	$5.0 \mu\text{M}$
3,9-ジヒドロキシメチルスタウロsporin	$0.5 \mu\text{M}$
スタウロsporin（公知化合物）	$0.05 \mu\text{M}$

この結果、本発明化合物は血管収縮と同程度もしくは低濃度で血小板凝集作用を発揮した。特に3, 9-ジアミノスタウロsporinは、 $0.06 \sim 0.3 \mu\text{M}$ という低濃度で効果を示した。また、3, 9-ジヒドロキシスタウロsporinでは、血管収縮が $5.0 \mu\text{M}$ であるのに対し血小板凝集阻害は $1.0 \sim 2.0 \mu\text{M}$ で効果を示し、同様に3,

9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリンは血管収縮が0.5 μ M、血小板凝集阻害は0.5~1.1 μ Mで効果を示した。一方、スタウロスポリンは、本発明化合物群に比し、むしろ血管収縮に対する効果の強いことが判る。すなわち、本発明化合物群が血小板に対して、高い特異性を有することを示す。

(実施例)

次に実施例を示す。

実施例1

(i) 4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

スタウロスポリン932mg(2.0 mmol)を乾燥ピリジン10mlに溶解し、0℃に冷却下、 β , β , β -トリクロロエチルクロロホルメート0.3ml(2.2 mmol)を滴下し、10時間反応させた。反応液に水10mlを加え、クロロホルムで抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去し、その

4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン846mg(1.32 mmol)を、2,6-ルチジン35mlに溶解し、無水酢酸12mlを滴下し、140℃に加熱下、3時間反応させた。反応液にクロロホルム40mlを加えた後、その溶液を希塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去し、残渣をアセトンにて再結晶して、淡黄色結晶6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン770mgを得た(収率85%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ)
 9.40(d, 1H, J=8 Hz), 8.00~7.20(m, 7H), 6.73(m, 1H), 5.00(s, 2H), 4.80(s, 2H), 3.95(br. s, 1H), 2.85(s, 3H), 2.65(s, 3H), 2.70~2.55(m, 1H), 2.55(s, 3H), 2.50~2.40(m, 2H), 2.41(s, 3H)
 IR (KBr): 2930, 1715, 1685, 1630, 1590, 1450, 1385, 1337, 1280, 1135, 1110, 745 cm^{-1}
 MS m/z 682 (M^+), 684 ($\text{M}^+ + 2$), 686 ($\text{M}^+ + 4$)

残渣をシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(溶出溶媒:クロロホルム)で精製し、淡黄色結晶4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン1052mgが得られた(収率82%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ)
 9.40(d, 1H, J=8 Hz), 8.00~7.20(m, 7H), 6.75~6.68(m, 1H), 6.62(br. s, 1H), 5.00(s, 2H), 4.77(br. s, 2H), 4.07(br. s, 1H), 2.85(s, 3H), 2.70~2.55(m, 1H), 2.60(s, 3H), 2.50~2.40(m, 2H), 2.41(s, 3H)
 IR (KBr): 3420, 2950, 1705, 1685, 1638, 1590, 1455, 1395, 1383, 1345, 1310, 1283, 1255, 1230, 1140, 1112, 1105, 1075, 1055, 1020, 810, 745, 720 cm^{-1}
 MS m/z 640 (M^+), 642 ($\text{M}^+ + 2$), 644 ($\text{M}^+ + 4$)

(ii) 6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

(iii) 6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

乾燥ジクロロメタン20mlを0℃に冷却し、トリフルオロメタンスルホン酸75 μ lを加えた後、発煙硝酸35 μ lを加え、20分間攪拌した。反応液を-78℃に冷却し、6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン885mg(0.56 mmol)のジクロロメタン溶液40mlを滴下し、30分間反応を行った。反応終了液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤濾去後、溶媒を減圧下に除去した残渣をメタノールにより再結晶して、淡黄色結晶6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン373mgを得た(収率91%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ)

9.85(s, 1H), 8.00 ~ 6.90(m, 6H), 6.75 (br. s, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.85(s, 2H), 3.95(br. s, 1H), 2.90(s, 3H), 2.70(s, 6H), 2.40(s, 3H), 2.90 ~ 2.40(m, 3H)
 IR (KBr) : 3400, 2950, 1715, 1695, 1600, 1520, 1465, 1345, 1135, 1110, 745 cm^{-1}
 MS m/z 727 (M^+), 729($M^+ + 2$), 731($M^+ + 4$)

(iv) 3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン 373 mg (0.51 mmol) をメチルセロソルブ 50 ml に加えた後、抱水ヒドラジン (85%) 12 ml を滴下し、室温にて3時間反応を行った。反応終了液に水 500 ml を加えた後、クロロホルムで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、そ

の残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) により精製して、黄色結晶 3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン 274 mg を得た (収率 78%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO- d_6)
 9.86(d, 1H, $J=2.5$ Hz), 8.00 ~ 7.32(m, 6H), 7.28 (br. s, 1H), 4.90 (br. s, 4H), 4.00(s, 1H), 3.30 ~ 3.15(m, 1H), 2.75(s, 3H), 2.90 ~ 2.70(m, 1H), 2.53(s, 3H), 2.35 ~ 2.20(m, 1H), 2.15(s, 3H)
 IR (KBr) : 3400, 2950, 1695, 1595, 1520, 1465, 1345, 1140, 1110, 745 cm^{-1}
 MS m/z 685 (M^+), 687($M^+ + 2$), 689($M^+ + 4$)

(v) 3-アミノスタウロスポリン
 3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン 100 mg (0.146 mmol) をメチルセロソルブ 500 ml に溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末 1.0 g および 1N-塩酸 10 ml を順次加え、室温で2時間反応を行った。反応終了後、飽和炭酸水素

ナトリウム水溶液 50 ml を加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗いした後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製して、薄茶色結晶の3-アミノスタウロスポリン 25 mg を得た (収率 36%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ)
 8.79(d, 1H, $J=2.1$ Hz), 7.91 (d, 1H, $J=8.5$ Hz), 7.86 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.39(t, 1H, $J=8.0, 8.5$ Hz), 7.29(t, 1H, $J=7.5, 8.0$ Hz), 7.09(d, 1H, $J=8.5$ Hz), 6.93(dd, 1H, $J=2.1, 8.5$ Hz), 6.57(d, 1H, $J=5.7$ Hz), 5.00(s, 2H), 3.84(d, 1H, $J=3.5$ Hz), 3.38(s, 3H), 3.32(dd, 1H, $J=3.5, 7.1$ Hz), 2.69(d, 1H, $J=5.7, 16.1$ Hz), 2.34(m, 1H), 2.33(s, 3H), 1.54(s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ)
 173.695, 139.738, 139.546, 131.691, 131.595, 130.794, 127.537, 124.679, 124.253, 124.030,

120.543, 119.902, 118.412, 115.212, 115.092, 114.842, 113.851, 111.853, 107.428, 91.077, 84.176, 80.141, 57.258, 50.353, 45.904, 33.353, 30.227, 30.045
 IR (KBr) : 3400, 3350, 2940, 1670, 1620, 1585, 1495, 1487, 1455, 1320, 1280, 1235, 1110, 750 cm^{-1}
 MS m/z 481 (M^+)

実施例 2

(i) 3, 9-ジニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

乾燥ジクロロメタン 16 ml を 0℃に冷却し、トリフルオロメタンスルホン酸 440 μl を加えた後、発煙硝酸 250 μl を加え、20分間攪拌した。反応液を -78℃に冷却し、4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン 200 mg (0.31 mmol) のジクロロメタン 12 ml に溶解した溶液を滴下し、45分間、反応を行った。反応終了液を飽和炭酸水素

ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去することにより黄色結晶 3, 9-ジニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 193 mg を得た (収率 85%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
 9.93(s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.29(d, 1H, J=7.8 Hz),
 8.20(d, 1H, J=7.8 Hz), 8.10(d, 1H, J=8.4 Hz), 7.
 77(d, 1H, J=8.4 Hz), 7.07(br. s, 1H), 5.00 (br.
 s, 4H), 4.30(br. s, 1H), 3.10~2.10(m, 3H), 2.73
 (s, 3H), 2.53(s, 3H), 2.40(s, 3H)

IR (KBr): 1700, 1595, 1518, 1465, 1340, 130
 2, 1230, 1145, 1100, 820, 797, 745 cm⁻¹

MS m/z 731 (M⁺ +1), 733 (M⁺ +3), 735 (M⁺ +5)

(H) 3, 9-ジアミノスタウロスボリン
 3, 9-ジニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 100 mg (0.137 mmol) をメチルセロ

ソルブ 28 ml に溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末 2.6 g および 1N-塩酸 15 ml を順次加え、室温で 2 時間反応を行った。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 60 ml を加え、不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、無水ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製して、薄褐色結晶 3, 9-ジアミノスタウロスボリン 21 mg を得た (収率 31%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d₆, δ)
 8.44(d, 1H, J=2.0 Hz), 8.31 (br. s, 1H), 7.64
 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.24(d, 1H, J=8.3 Hz), 7.09
 (d, 1H, J=1.8 Hz), 6.81(dd, 1H, J=2.0, 8.3 Hz), 6.
 74(dd, 1H, J=1.8, 9.0 Hz), 6.53(d, 1H, J=5.0 Hz),
 c.a. 4.80(br. s, 4H), 4.79(s, 2H), 3.98(br. s,
 1H), 3.45(m, 1H), 3.21(s, 3H), 2.48(m, 1H), 2.35
 (m, 1H), 2.21(s, 3H), 1.63(s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d₆, δ
 c)

172.555, 142.278, 141.482, 132.378, 131.499,
 130.207, 130.102, 126.858, 124.997, 123.631,
 118.000, 115.303, 114.528, 113.677, 113.396,
 112.839, 109.379, 108.404, 104.185, 91.077,
 82.671, 80.105, 57.690, 50.890, 45.309,
 40.282, 33.546, 29.685

IR (KBr): 3330, 2940, 1665, 1608, 1570, 148
 8, 1460, 1450, 1400, 1340, 1315, 1285, 1235, 1142,
 1128, 1100, 1068, 1040, 795, 720 cm⁻¹

MS (FAB-) 497 (M⁺ +1)

実施例 3

(1) 6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

乾燥ジクロロメタン 1 ml に 6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 100 mg (0.196 mmol) を溶解させ、0℃に冷却下、四塩化チタン 320 μ l (2.0 eq)、さらに α , α -ジクロロメチルメチルエーテル 130 μ l (1.0 eq) を

加え、室温で 2.5 時間反応を行った。反応終了液にジクロロメタン 100 ml を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去することにより、黄色結晶 6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 72 mg (0.13 mmol) を得た (収率 67%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
 10.07(s, 1H), 9.83(s, 1H), 9.23(s, 1H), 8.29(s, 1
 H), 8.02(d, 1H, J=2.8 Hz), 7.93(d, 1H, J=7.8 Hz), 7.
 73(d, 1H, J=7.8 Hz), 7.60(d, 1H, J=7.8 Hz), 6.91
 (br. s, 1H), 5.06(s, 2H), 4.99(s, 2H), 4.26(br. s,
 1H), 3.10~2.10(m, 3H), 2.73(s, 3H), 2.53(s, 3
 H), 2.52(s, 3H), 2.41(s, 3H)

IR (KBr): 1720, 1695, 1640, 1623, 1596, 138
 6, 1337, 1295, 1197, 1143, 1117, 807, 782, 763, 715
 cm⁻¹

MS m/z 738 (M⁺), 740 (M⁺ +2), 742 (M⁺ +4)

(II) 3, 9-ジヒドロキシ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン272mg(0.37mmol)をジクロロメタン50mlに加え溶解した後、メタクロ過安息香酸346mgおよび炭酸水素カリウム100mgを加え、光遮断下、室温にて3.5時間反応を行った。反応終了液を飽和亜硫酸ナトリウム水溶液50ml、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液50mlおよび水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤濾去後、溶媒を減圧下に除去した残渣をメチルセロソルブ45mlに溶解した後、4N-水酸化ナトリウム水溶液10mlを加え、室温にて2時間攪拌した。反応終了液を1N-希塩酸50mlで中和した後、ジクロロメタンで抽出し、そのジクロロメタン溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリ

カゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、淡黄色結晶3, 9-ジヒドロキシ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン196mgを得た(収率79%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO- d_6 + D_2O , δ)
8.20(s, 1H), 7.78(d, 1H, J=9.6Hz), 7.43(d, 1H, J=9.6Hz), 7.31(s, 1H), 7.01(d, 2H, J=9.6Hz), 6.83(br, s, 1H), 4.93(s, 2H), 4.91(s, 2H), 4.23(br, s, 1H), 4.0~2.0(m, 3H), 2.73(s, 3H), 2.67(s, 3H), 2.24(s, 3H)

IR (KBr): 3350, 2900, 1700, 1674, 1657, 1620, 1580, 1473, 1408, 1392, 1344, 1316, 1277, 1220, 1142 cm^{-1}

MS (FAB-) 689(M^+ +1)

(III) 3, 9-ジヒドロキシスタウロスポリン

3, 9-ジヒドロキシ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン110mg(0.164mmol)をメチル

セロソルブ50mlに溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末7.5gおよび1N-塩酸15mlを順次加え、室温で2時間反応を行った。反応終了液を0.4N水酸化カリウム水溶液でpH5に調整した後、不溶物を濾過した。溶液を吸着樹脂HP-20(三菱化成)に吸着させ、精製し(水-メタノール)、薄茶色結晶である3, 9-ジヒドロキシスタウロスポリン32mgを得た(収率40%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO- d_6 , δ)
9.0(s, 1H), 8.9(s, 1H), 8.5(s, 1H), 8.2(s, 1H), 7.6(d, 1H, J=9.4Hz), 7.2(d, 1H, J=9.4Hz), 7.1(s, 1H), 6.8(d, 2H, J=9.4Hz), 6.5(br, s, 1H), 4.8(s, 2H), 4.0(br, s, 1H), 4.0~2.0(m, 3H), 2.8(s, 3H), 2.3(s, 3H), 2.0(s, 3H)

IR (KBr): 3340, 2900, 1664, 1657, 1620, 1580, 1472, 1390, 1346 cm^{-1}

MS (FAB-) 499(M^+ +1)

実施例4

(I) 6-アセチル-3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロ

ロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン172mg(0.23mmol)を乾燥テトラヒドロフラン8mlに溶解した液を、水素化ホウ素ナトリウム49mgを含む乾燥テトラヒドロフランの懸濁液2mlに加え、室温にて2.5時間反応を行った。反応終了液に水100mlを加えた後、クロロホルムで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)にて精製して、淡黄色結晶6-アセチル-3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン83.6mgを得た(収率48%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO- d_6 , δ)
9.00(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.83(d, 1H, J=9.0Hz), 7.50(d, 1H, J=9.0Hz), 7.46(d, 1H, J=9.0Hz), 7.40

(d, 1H, J=9.0Hz), 6.93(m, 1H), 5.23(s, 2H), 5.13(s, 2H), 4.93(s, 2H), 4.64(s, 1H), 4.62(m, 1H), 4.26(br. s, 1H), 4.0 ~ 3.0(m, 1H), 2.80~2.00(m, 2H), 2.73(s, 3H), 2.64(s, 3H), 2.62(s, 3H), 2.33(s, 3H)

IR (KBr) : 3460, 2956, 2891, 1716, 1620, 1596, 1460, 1420, 1384, 1344, 1316, 1290 cm^{-1}

MS (FAB-) 743 ($\text{M}^+ + 1$)

(II) 3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

6-アセチル-3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン360mg (0.48mmol)をメチルセロソルブ36mlに加えた後、抱水ヒドラジン(85%)12mlを滴下し、室温にて30分間反応を行った。反応終了後に水100mlを加えた後、クロロホルム100mlで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、

スタウロスポリン35.8mg (0.05mmol)をメチルセロソルブ15mlに溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末2gおよび1N-塩酸3mlを順次加え、室温で5時間反応を行った。反応終了後、25%アンモニア水17mlを加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、薄茶色結晶の3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)スタウロスポリン17.8mgを得た(収率66%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO- d_6)
9.13(s, 1H), 8.40(s, 1H), 7.82(d, 1H, J=9Hz), 7.80(s, 1H), 7.53(s, 1H), 7.47(s, 1H), 7.40(d, 1H, J=9Hz), 6.67(s, 1H), 5.13(br. s, 2H), 4.93(s, 2H), 4.73(s, 4H), 4.66(s, 1H), 4.06(s, 1H), 4.06(s, 1H), 4.0~3.0(m, 1H), 3.27(s, 3H), 2.5~2.4(m, 2H), 2.30(s, 3H), 1.47(s, 3H)

溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、淡黄色結晶3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン254mgを得た(収率75%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO- d_6)
9.13(s, 1H), 8.46(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.80(d, 1H, J=9.0Hz), 7.70~7.20(m, 2H), 7.00(br. s, 1H), 5.13(s, 3H), 5.00(s, 2H), 4.67(s, 4H), 4.26(br. s, 1H), 2.70~2.55(m, 1H), 2.73(s, 1H), 2.60(s, 1H), 2.50~2.40(m, 1H), 2.33(s, 1H)

IR (KBr) : 3481, 2943, 1691, 1678, 1592, 1455, 1400, 1383, 1338, 1303, 1286, 1255, 1230, 1217, 1148, 1130, 1100, 1080 cm^{-1}

MS (FAB-) 701 ($\text{M}^+ + 1$)

(III) 3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)スタウロスポリン

3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)

IR (KBr) : 3370, 1666, 1657, 1590, 1457, 1412, 1396, 1350 cm^{-1}

MS (FAB-) 525 ($\text{M}^+ + 1$)

実施例5

(i) 6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

乾燥ジクロロメタン1mlに6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン110mg (0.151mmol)を溶解させ、0℃に冷却下、四塩化チタン170 μl (1.0eq)、さらに α, α -ジクロロメチルメチルエーテル67 μl (5eq)を加え、室温で25時間反応を行った。反応終了後にジクロロメタン100mlを加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去することにより、黄色結晶6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリンを得た。

ルボニル)スタウロスポリン65mg(0.086mmol)を得た(収率57%)。

¹H-NMR(90MHz, DMSO-d₆)
9.91(s, 1H), 9.88(s, 1H), 8.31(s, 1H), 8.28(d, 1H, J=7.8Hz), 8.19(d, 1H, J=7.8Hz), 7.76(d, 1H, J=7.8Hz), 7.63(d, 1H, J=7.8Hz), 6.93(br. s, 1H), 5.00(s, 2H), 4.97(s, 2H), 4.16(br. s, 1H), 3.10 ~ 2.10(m, 3H), 2.72(s, 3H), 2.57(s, 3H), 2.51(s, 3H), 2.49(s, 3H), 2.41(s, 3H)

IR(KBr): 2900, 1720, 1695, 1640, 1595, 1465, 1386, 1341, 1295, 1197, 1143, 1110, 746 cm⁻¹

MS(FD-) 765(M⁺)

(ii) 9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β-トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β-トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン264mg(0.35mmol)をジクロロメタン50mlに溶解させた後、メタクロ過安息香酸330mgおよび炭酸水

19(d, 1H, J=7.8Hz), 7.60(d, 1H, J=7.8Hz), 7.16(s, 1H), 6.83(d, 1H, J=7.8Hz), 6.71(br. s, 1H), 5.01(s, 1H), 4.96(s, 1H), 4.18(br. s, 1H), 3.10 ~ 2.10(m, 3H), 2.73(s, 3H), 2.51(s, 3H), 2.40(s, 3H)

IR(KBr): 3408, 2950, 1720, 1695, 1632, 1590, 1455, 1386, 1295, 1196, 1142, 1116 cm⁻¹

MS(FD-) 701(M⁺)

(iii) 3-アミノ-9-ヒドロキシスタウロスポリン

9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β-トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン120mg(0.171mmol)をメチルセロソルブ500mlに溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末1.0gおよび1N-塩酸10mlを順次加え、室温で2時間反応を行った。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液50mlを加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗いした後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム

素カリウム100mgを加え、光遮断下、室温にて3.5時間反応を行った。反応終了液を飽和亜硫酸ナトリウム水溶液50ml、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液50mlおよび水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤濾去後、溶媒を減圧下に除去した残渣をメチルセロソルブ40mlに溶解した後、4N-水酸化ナトリウム水溶液10mlを加え、室温にて2時間攪拌した。反応終了液を1N-塩酸50mlで中和した後、ジクロロメタンで抽出し、そのジクロロメタン溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、黄色結晶9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β-トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン171mg(0.24mmol)を得た(69%)。

¹H-NMR(90MHz, DMSO-d₆)
9.91(s, 1H), 8.90(s, 1H), 8.28(d, 1H, J=7.8Hz), 8.

濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、薄茶色結晶の3-アミノ-9-ヒドロキシスタウロスポリン27mgを得た(収率32%)。

¹H-NMR(90MHz, DMSO-d₆)
8.70(s, 1H), 8.44(s, 1H), 8.31(br. s, 1H), 7.58(d, 1H, J=9.4Hz), 7.23(s, 1H), 7.10(d, 1H, J=8.5Hz), 6.82(d, 1H, J=9.4Hz), 6.81(d, 1H, J=8.5Hz), 6.53(br. s, 1H), 4.78(s, 2H), 5.0 ~ 4.5(br. s, 2H), 3.97(br. s, 1H), 3.50 ~ 2.10(m, 3H), 3.16(s, 3H), 2.16(s, 3H), 1.69(s, 3H)

IR(KBr): 3330, 2940, 1668, 1601, 1570, 1488, 1460, 1452, 1403 cm⁻¹

MS(FAB-) 498(M⁺+1)

実施例6

(1) 6-アセチル-9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β-トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン
6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-

4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン160mg(0.211mmol)を乾燥テトラヒドロフラン8mlに溶解した液を、水素化ホウ素ナトリウム47mgを含む乾燥テトラヒドロフランの懸濁液2mlに加え、室温にて2.5時間反応を行った。反応終了液に水100mlを加えた後、クロロホルムで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)にて精製して、黄色結晶6-アセチル-9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン76mgを得た(47%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO-d₆, δ)
 9.90(s, 1H), 8.25(d, 1H, J=8.5Hz), 8.16(d, 1H, J=8.5Hz), 7.86(s, 1H), 7.51(d, 1H, J=9.0Hz), 7.38(d, 1H, J=9.0Hz), 6.84(m, 1H), 5.03(s, 2H), 4.89(s, 2H), 4.81(s, 2H), 4.63(s, 1H), 4.21(br. s, 1H),

ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン221mgを得た(収率67%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO-d₆, δ)
 9.91(s, 1H), 8.40(s, 1H), 8.22(d, 1H, J=8.5Hz), 8.16(d, 1H, J=8.5Hz), 7.88(s, 1H), 7.50(d, 1H, J=9.1Hz), 7.36(d, 1H, J=9.1Hz), 6.78(m, 1H), 5.02(s, 2H), 4.91(s, 2H), 4.86(s, 2H), 4.61(s, 1H), 4.20(br. s, 1H), 4.10~2.10(m, 3H), 2.75(s, 3H), 2.54(s, 3H), 2.31(s, 3H)

IR (KBr): 3430, 2944, 1690, 1677, 1592, 1544, 1458, 1400, 1383, 1338, 1302cm⁻¹

MS (FD-) 715 (M⁺)

(B) 3-アミノ-9-ヒドロキシメチルスタウロスボリン

9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン35mg(0.049mmol)をメチルセロソルブ15mlに溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末2gおよび1N-塩酸3mlを順次加え、室

4.0~2.3(m, 3H), 2.76(s, 3H), 2.61(s, 3H), 2.54(s, 3H), 2.30(s, 3H)

IR (KBr): 2951, 2890, 1715, 1620, 1596, 1520, 1460, 1420, 1383, 1347, 1320, 1300cm⁻¹

MS (FD-) 757 (M⁺)

(H) 9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

6-アセチル-9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン348mg(0.459mmol)をメチルセロソルブ35mlに溶解させた後、泡水ヒドラジン(85%)12mlを滴下し、室温にて30分間反応を行った。反応終了液に水100mlを加えた後、クロロホルム100mlで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、黄色結晶9-

温で5時間反応を行った。反応終了後、25%アンモニア水17mlを加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗いした後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して薄茶色結晶3-アミノ-9-ヒドロキシメチルスタウロスボリン14mgを得た(収率56%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90MHz, DMSO-d₆, δ)
 8.44(s, 1H), 8.41(s, 1H), 7.86(s, 1H), 7.47(d, 1H, J=9.0Hz), 7.36(d, 1H, J=9.0Hz), 7.23(d, 1H, J=8.5Hz), 6.81(d, 1H, J=8.5Hz), 6.54(br. s, 1H), 4.91(s, 2H), 4.81(s, 2H), 4.55(s, 1H), 4.16(br. s, 1H), 4.40~4.00(br. s, 2H), 4.10~2.10(m, 3H), 3.41(s, 3H), 2.17(s, 3H), 1.65(s, 3H)

IR (KBr): 3338, 2943, 1671, 1605, 1572, 1489, 1463, 1451, 1400cm⁻¹

MS (FAB-) 612 (M⁺+1)